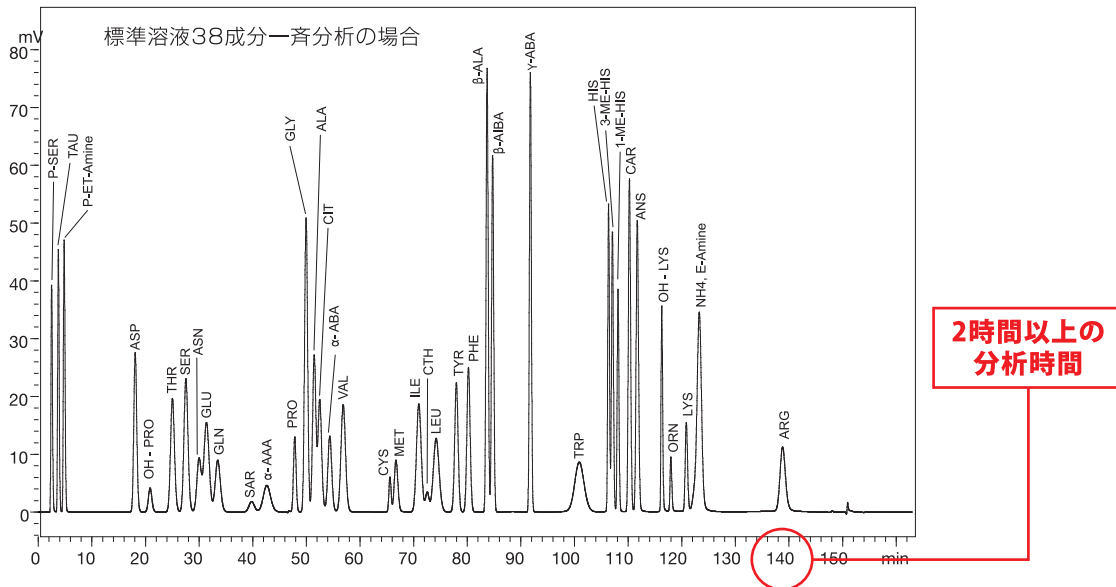
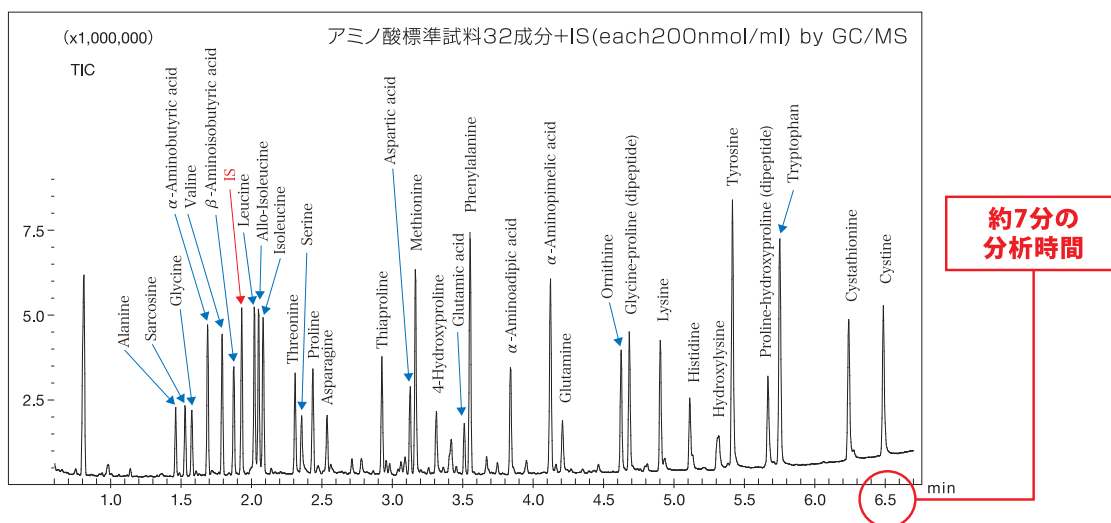
アミノ酸分析

近年、アミノ酸はあらゆる分野で注目されている物質でありその分析目的も様々です。
食品中のアミノ酸分析をはじめ、バイオマーカー探索、メタボローム解析、植物の品種改良などについても数多く行われております。

現在のポピュラーなアミノ酸分析手法は専用ＬＣシステム（イオン交換 - ポストカラム誘導体化 HPLC 法）による分析で、前処理のノウハウが必要であり、また分析時間が長いというのが現状です。

ここでは、EZ：faast（イージーファースト）アミノ酸前処理誘導体化キットを用いたアミノ酸迅速分析手法をご紹介します。EZ：faast キットを用いれば前処理誘導体化が約７分、GC（/FID, /MS）分析時間約７分で完了します。また、LC/MS/MS を用い pmol/mL オーダーで分析する事も可能です。

■イオン交換 - ポストカラム誘導体化 HPLC 法

■ EZ：faast アミノ酸迅速分析手法

EZ：faast™ アミノ酸迅速分析手法の流れ

Ez:faastによる前処理フロー

STEP 1
試料を量り取り、内部標準液を添加する。（黄色）

STEP 2
SPEチップにサンプルを通す。

STEP 3
洗浄溶媒（青色）をSPEチップに通す。

STEP 4
溶出液（無色）をチップに通し、チップからアミノ酸（青色）を溶出させる。

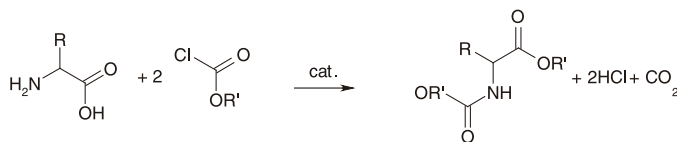
STEP 5
有機誘導体試薬（オレンジ色）を加える。
誘導体化は水層中にて約2.5分間で完了する。

STEP 6
水層（黄緑色）から有機層（オレンジ色）にアミノ酸誘導体を抽出する。

STEP 7
サンプル前処理完了後、分析装置へ注入。

STEP 8
分析開始。

注）わかりやすくするために溶液に着色しています。実際の試料ではこのような色は付きません。

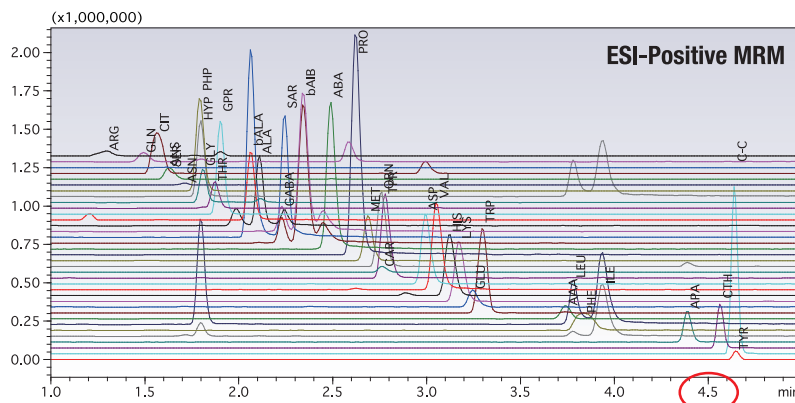
$$H_2N\text{-}CH(R)\text{-}C(=O)OH + 2\,Cl\text{-}C(=O)OR' \xrightarrow{cat.} R'O\text{-}C(=O)\text{-}NH\text{-}CH(R)\text{-}C(=O)OR' + 2HCl + CO_2$$

EZ：faast 誘導体化反応図

EZ：faast, LC/MS/MS 法によるアミノ酸分析

Nexera + LCMS-8030

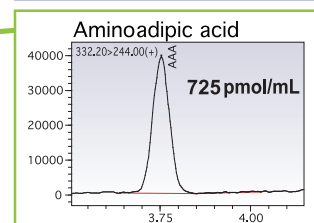
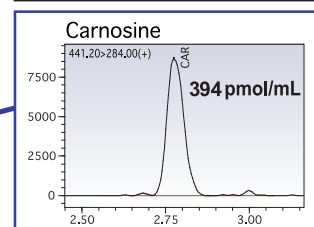
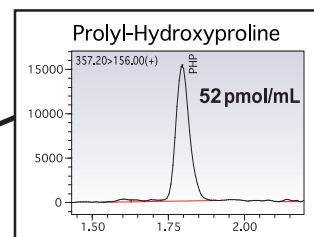
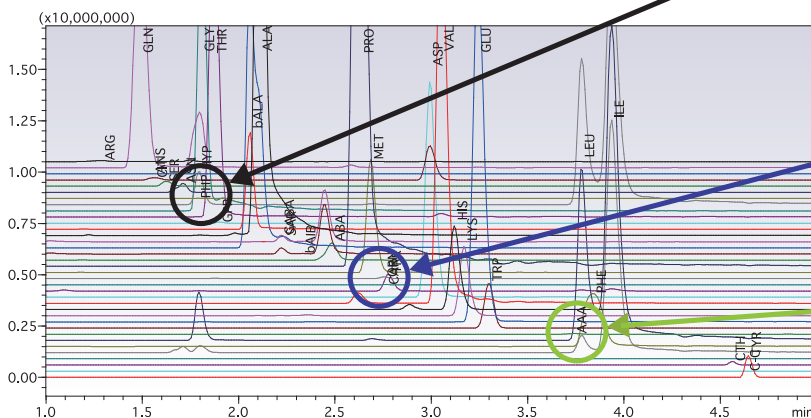
Column　　　　　：Phenomenex Kinetex C18 2.1x150 mm, 1,7 μm※1
Mobile Phase　　：A ：5 mmol/L Ammonium Formate - Water
　　　　　　　　　B ：5 mmol/L Ammonium Formate - Methanol
Gradient Prog.　：B conc. 50%(0 min)->65%(1-3 min)->90%(4-4.5 min)->50%(4.51-7 min)
Flow rate　　　　：0.4 mL/min
Column Temp.　：50℃
Inj. Vol.　　　　：2 μL

※1　Kinetex カラムは EZ:faast キットには付属しておらず、キット付属のカラム（250mL、4μm）で分析を行った場合は、約 20min の分析時間となります。

■アミノ酸 36 成分 STD の超高速分析の分析結果

分析時間7min（サイクルタイム 検出時間:約4.5分）
(+前処理7 min)
⇒計14 min

イオン交換-ポストカラム誘導体化HPLC法の約1/10

■ヒト大腸がん細胞抽出物の分析結果

・夾雑成分による顕著な妨害は確認されず
・相対的に微量なアミノ酸や関連物質も選択的に検出された

培養細胞抽出物サンプルは、国立がん研究センター研究所 がん分化制御解析分野 岡本康司先生よりご提供いただきました

EZ：faast, GC/MS 法によるアミノ酸分析

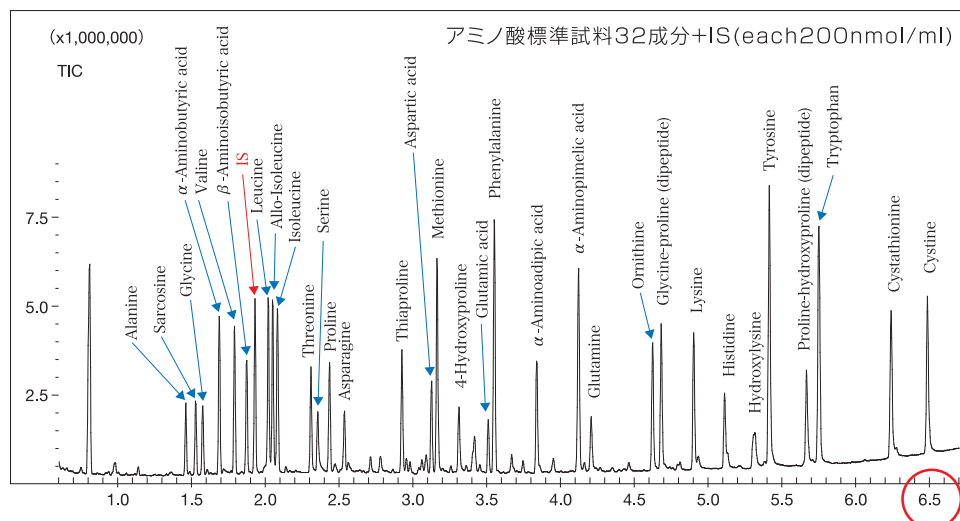
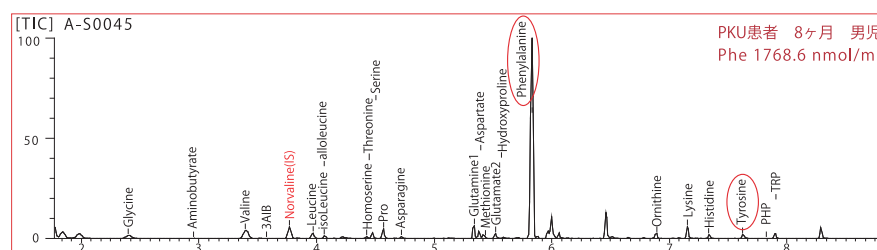
装置設定条件

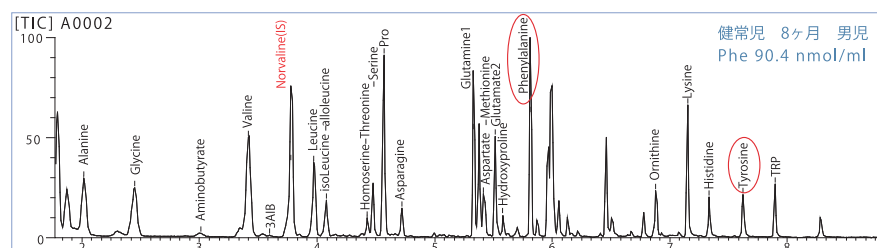
Model　：GCMS-QP2010 シリーズ
Column　：ZB-AAA 10M*0.25mmI.D.（キット付属カラム）

GC 条件

Inj.Temp.　：280℃
Column Temp.　：110℃（0min）→ 30℃ /min → 320℃（0min）
Carrier Gas　：He
Pressure　：15kPa
Split Ratio　：1：15

MS 条件

Interface Temp.　：280℃
Ion Source Temp.　：200℃
Scan Range　：m/z：45-450
Scan Interval　：0.15sec

■フェニルケトン尿症（PKU）患者と健常者血清中のアミノ酸プロフィル

［分析条件］

Instrument	: GC-MSD
Colum	: ZB-AAA 10m x 0.25mmI.D (EZ:faast キット付属カラム)
-GC	
Injection volume	: 1ul
Injection Temp	: 250℃
Column Temp	: 110℃(3min)-30℃/min -320℃
Carrier Gas	: He
Split	: 1/15
-MS	
Interface Temp	: 280℃
Ion Source Temp	: 200℃
Scan range	: m/z : 45-450

※フェニルケトン尿症･･･フェニルアラニン水酸化酵素活性の事実上の欠損と血漿フェニルアラニンの上昇を特徴とする先天代謝異常で、しばしば精神遅滞をもたらす。
（厚生労働省 HP より抜粋）

※ミルスインターナショナル張様よりご提供頂きました。

EZ：faast™ キット仕様

項目	仕様
検出限界	1 nmol/mL (GC/FID)
定量精度 % RSD	±15% (概ね <10%)
保持時間再現性 % RSD	>1%
対応検体数 (1 キット)	384 検体

キット内容	入数	キット内容	入数
前処理試薬 ※1	一式	20-100μL マイクロディスペンサー	1 本
アミノ酸スタンダード試薬 ※2	一式	専用分析カラム	1 本
アミノ酸吸着用チップ	384 本	取扱説明書	1 冊
サンプル前処理用バイアル	400 本	試薬 MSDS	一式
0.6mL プラスチックシリンジ	6 本	リファレンス CD※3	1 枚
1.5mL プラスチックシリンジ	6 本		

※1　前処理試薬のみの販売は行なっておりません
※2　2mL のバイアルが 2 セット分同封しております
※3　MS 用キットには MS スペクトル一覧が入っております

内部標準洗浄液
溶出溶媒1,2
有機溶媒1,2
酸性溶液

0.6mLシリンジ SPEアミノ酸溶出用

マイクロディスペンサー

前処理用バイアルラック

1.5mLシリンジ SPEアミノ酸ローディング、洗浄用

アミノ酸標準溶液

前処理用バイアル

EZ:faastキット
（見本写真）

SPEチップ 384個
EZ:faast推奨ライナー(写真は掲載されていません)

EZ：faast™ 価格表

■キット本体

製品名	付属カラム	P/N	価格 (円)
LC/MS 用遊離 (生体) アミノ酸分析キット	AAA-MS 4u 250×2.0mm	KH0-7337	308,700
LC/MS 用遊離 (生体) アミノ酸分析キット	AAA-MS 4u 250×3.0mm	KH0-7338	308,700
LC/MS 用タンパク質加水分解アミノ酸分析キット	AAA-MS 4u 250×2.0mm	KH0-7339	324,900
LC/MS 用タンパク質加水分解アミノ酸分析キット	AAA-MS 4u 250×3.0mm	KH0-7340	324,900
GC/FID 用遊離 (生体) アミノ酸分析キット	ZB-AAA 10m×0.25mmI.D.	KG0-7165	279,500
GC/MS 用遊離 (生体) アミノ酸分析キット	ZB-AAA 10m×0.25mmI.D	KG0-7166	295,700
GC/FID 用タンパク質加水分解アミノ酸分析キット	ZB-AAA 10m×0.25mmI.D.	KG0-7167	295,700
GC/MS 用タンパク質加水分解アミノ酸分析キット	ZB-AAA 10m×0.25mmI.D.	KG0-7168	311,900

本製品は劇物に該当します。「毒物および劇物取締法」に基づいて、お取り扱いください。毒物劇物一般販売業に登録の販売店よりご購入下さい。

■付属品・消耗品

製品名	入数	P/N	価格 (円)
EZ：faast 用 GC,GC/MS キャピラリーカラム ZB-AAA 10m×0.25mm.I.D	1 本	CG0-7169	59,400
EZ：faast 用 LC/MS カラム AAA-MS 4u 250×2.0mm	1 本	00G-4402-B0	90,600
EZ：faast 用 LC/MS カラム AAA-MS 4u 250×3.0mm	1 本	00G-4402-Y0	90,600
GC 遊離 (生体) アミノ酸スタンダード (SD1,2,3) 2mL/Vial	各 2 本	AG0-7184	10,800
GC 用タンパク質加水分解スタンダード (SD1,2,3) 2mL/Vial	各 2 本	AG0-7263	5,400
LC/MS 用遊離 (生体) アミノ酸スタンダード (SD1,2,3) 2mL/Vial	各 2 本	AL0-7500	10,800
LC/MS 用タンパク質加水分解スタンダード (SD1,2,3) 2mL/Vial	各 2 本	AL0-7501	5,400
Ez：faast 用 0.6mL プラスチックシリンジ	100 本	AS0-8534	38,000
Ez：faast 用 1.5mL プラスチックシリンジ	100 本	AS0-8535	38,000
Ez：faast 推奨ライナー　島津用	5 本	092085	17,600
Ez：faast 推奨ライナー　Agilent 用	5 本	092003	18,100